

星点设计-效应面法优选克疣纳米乳处方

贾永艳*, 袁玉霞, 魏超娟, 田效志, 祝侠丽, 尹香阁, 赵文龙
(河南中医学院, 郑州 450046)

[摘要] 目的:优化克疣纳米乳的处方工艺。方法:以外观性状和粒径的综合评分为因变量,混合表面活性剂-肉豆蔻酸异丙酯(IPM),聚山梨酯 80-无水乙醇、水-表面活性剂为自变量,采用星点设计-效应面优化法优选克疣纳米乳的处方工艺。结果:最佳处方为混合表面活性剂-IPM(8.090:1),聚山梨酯 80-无水乙醇(3.082:1),水-表面活性剂(8.606 1:1)。制备的克疣纳米乳平均粒径 27.46 nm,Zeta 电位 -0.522 4 mV。结论:优化的处方工艺稳定可行,制备的克疣纳米乳质量符合要求。

[关键词] 克疣纳米乳;星点设计效应面法;粒径

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)14-0039-04

[doi] 10.11653/syjf2013140039

Optimization of Formulation of Keyou Nanoemulsion by Central Composite Design-Response Surface Methodology

JIA Yong-yan*, YUAN Yu-xia, WEI Chao-juan, TIAN Xiao-zhi, ZHU Xia-li, YIN Xiang-ge, ZHAO Wen-long
(Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize prescription of Keyou nanoemulsion. **Method:** With composite score of appearance and particle size as dependent variable, ratio of mixed surfactant-isopropyl (IPM), tween 80-ethanol and water-surfactant as independent variables, blank prescription of Keyou nanoemulsion was optimized by central composite design-response surface methodology, and then added drug to prepared blank Keyou nanoemulsion. **Result:** Optimal prescription was as following: mixed surfactant-IPM (8.090:1), tween 80-ethanol (3.082:1), water-surfactant (8.606 1:1). Average particle size of prepared Keyou nanoemulsion was 27.46 nm, Zeta potential value was -0.522 4 mV. **Conclusion:** This optimized process was stable and feasible for preparation of Keyou nanoemulsion.

[Key words] Keyou nanoemulsion; central composite design response surface methodology; particle size

克疣方剂是我院治疗尖锐湿疣的临床验方,由苦参、紫草、鸦胆子、冰片、薄荷脑等组成,具有清热燥湿、解毒散瘀、散结消疣之功效,用于治疗尖锐湿疣即人乳头瘤病毒感染引起的增殖性疾病,疗效显著^[1],但临床多以酊剂应用,存在诸多不便。纳米乳又称微乳,是粒径 10~100 nm 的乳滴分散于另一种液体中形成的胶体分散体系,已在透皮微乳促进药物吸收、降低刺激性^[2-3],静脉注射纳米乳对药物

药动学参数特征影响^[4]等方面取得良好效果。本实验采用现代中药制备工艺将克疣方剂制成透皮快、生物利用度高、稳定性好的纳米乳制剂,在单因素试验基础上,采用三因素五水平星点设计-效应面法^[5]优选其处方工艺。由于处方中紫草的有效成分为羟基萘醌类色素,呈紫红色,颜色较深,在纳米乳的形成过程中,会影响对纳米乳外观变化的准确判断,故先优选空白纳米乳的处方,进而制备克疣纳米乳。

1 材料

AL204 型电子天平(梅特勒-托利多仪器有限公司),HJ-1 型磁力加热搅拌器(巩义市英峪予华仪器厂),NaNo-ZS90 型激光纳米粒度分析仪(英国马尔文)。肉豆蔻酸异丙酯(IPM,浙江物美化学品有限

[收稿日期] 20121221(009)

[基金项目] 郑州市科技攻关项目(0910 SGYS33390-2)

[通讯作者] * 贾永艳,教授,硕士生导师,从事药物制剂新技术与新剂型研究,Tel:13526862076,E-mail:hnzyjyy@126.com

公司),聚山梨酯 80(吐温 80,天津欧博凯化工有限公司),水为双蒸水,其他试剂均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 空白纳米乳的处方优化

2.1.1 星点设计 在单因素试验基础上,采用三因素五水平星点设计,选择混合表面活性剂-IPM,吐温 80-无水乙醇及水-表面活性剂为自变量,确定其极值范围分别为 2~9,1~4,4~10,以纳米乳的外观性状和粒径的综合评分为因变量,外观性状和粒径每个指标均标准化为 0~1 的“归一值”,各指标“归一值”求算几何平均数,得总评“归一值”,对取值越小越好的因素采用 Hassan 法^[3]分别进行数学转换求“归一值”, $d_{min} = (Y_{max} - Y_i) / (Y_{max} - Y_{min})$ 。因素水平见表 1,试验安排及结果见表 2(处方 1,5,9,11 浑浊分层,故剔除)。

表 1 空白纳米乳的处方优选星点试验因素水平

水平代码	X_1	X_2	X_3
-1.732	2	1	4
-1	3.479	1.634	5.268
0	5.5	2.5	7
1	7.521	3.366	8.732
1.732	9	4	10

表 2 空白纳米乳的处方优选星点试验安排

No.	X_1	X_2	X_3	平均粒径 /nm	外观性状	综合评分
1	7.521	1.634	5.268	18.77	2	1.589
2	3.479	3.336	5.268	88.22	4	0
3	7.521	3.336	5.268	14.11	1	1.985
4	7.521	1.634	8.732	18.59	2	1.592
5	3.479	3.336	8.732	65.54	4	0.301
6	7.521	3.336	8.732	13.18	1	1.997
7	9	2.5	7	12.94	1	2
8	5.5	4	7	15.58	2	1.632
9	5.5	2.5	4	69.09	3	0.587
10	5.5	2.5	10	18.33	2	1.595
11	5.5	2.5	7	20.52	2	1.566
12	5.5	2.5	7	19.91	2	1.574
13	5.5	2.5	7	20.52	2	1.566
14	5.5	2.5	7	19.91	2	1.574
15	5.5	2.5	7	20.52	2	1.566
16	5.5	2.5	7	19.91	2	1.574

2.1.2 数据模型拟合 采用 DPS 7.55 软件,分别

对数据进行拟合,得多元线性回归方程 $Y = -1.366 + 0.317 1X_1 + 0.073X_2 + 0.099 2X_3$ ($r = 0.818 4, P < 0.01$),二次多项式回归方程 $Y = -19.893 + 3.166 7X_1 + 4.446 2X_2 + 1.179 1X_3 - 0.150 8X_1^2 - 0.435 7X_2^2 - 0.053 2X_3^2 - 0.233 8X_1X_2 - 0.038 9X_1X_3 - 0.040 9X_2X_3$ ($r = 0.989 2, P < 0.01$),以 r 最大且 F 检验合格为原则,说明二次多项式拟合较好。

2.1.3 效应面优化和估测 采用 Original 7.5 软件绘制星点试验结果的三维效应面图和二维等高线图,见图 1~3。结果发现,随 X_1 的增加,综合评分快速增大;当 X_2, X_3 恒定时,综合评分随 X_1 增大而增大。确定 $X_1 = 8.090, X_2 = 3.082, X_3 = 8.606 1$ 。

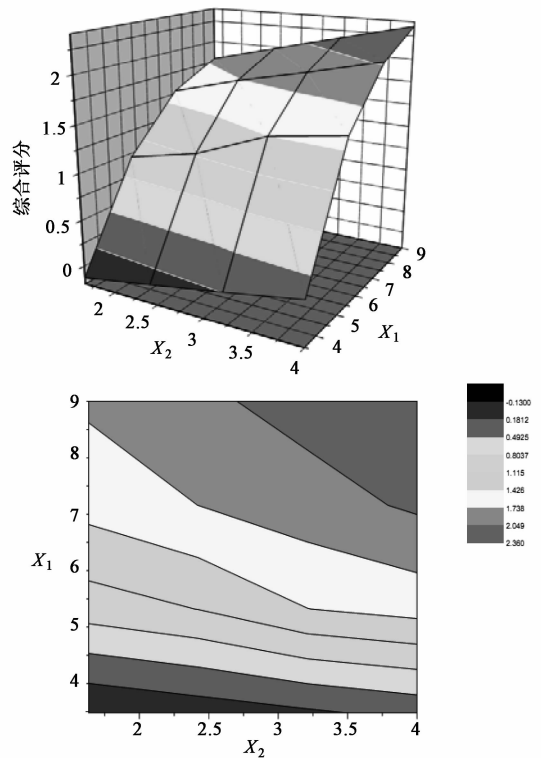


图 1 综合评分对 X_2 和 X_1 的三维效应面及二维等高线

2.1.4 验证试验 按优选的处方进行 3 次验证试验,结果实测值分别为 1.972 8,1.989 4,1.986 1,均与预测值接近,说明所建数学模型具有良好的预测效果。

2.2 空白纳米乳的制备 精密称取吐温 80 适量,置于干燥洁净的烧杯中,加入处方量的助乳化剂无水乙醇,于室温下磁力搅拌均匀;加入处方量 IPM,混匀;加入处方量双蒸水,混匀,即得澄清透明的空白纳米乳,置于 4℃ 冰箱中储存备用。

2.3 克疣纳米乳的制备 按比例称取适量的吐温 80、无水乙醇、混合油相(紫草、鸦胆子超临界萃取

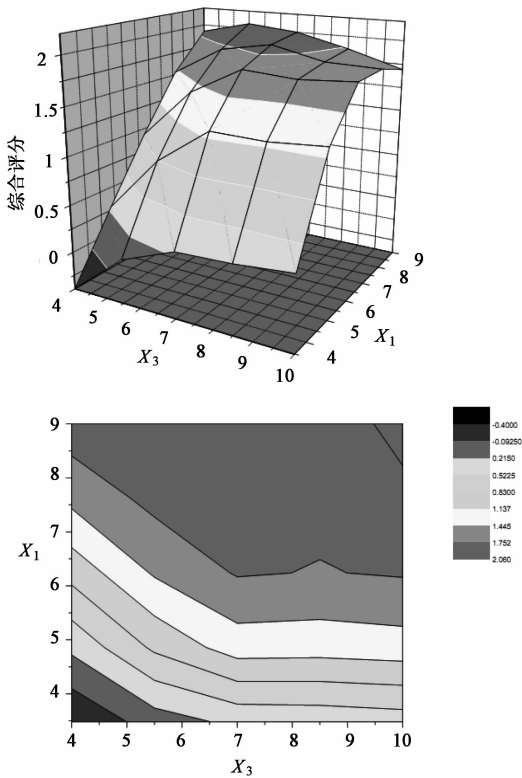


图2 综合评价对 X_3 和 X_1 的三维效应面图及二维等高线

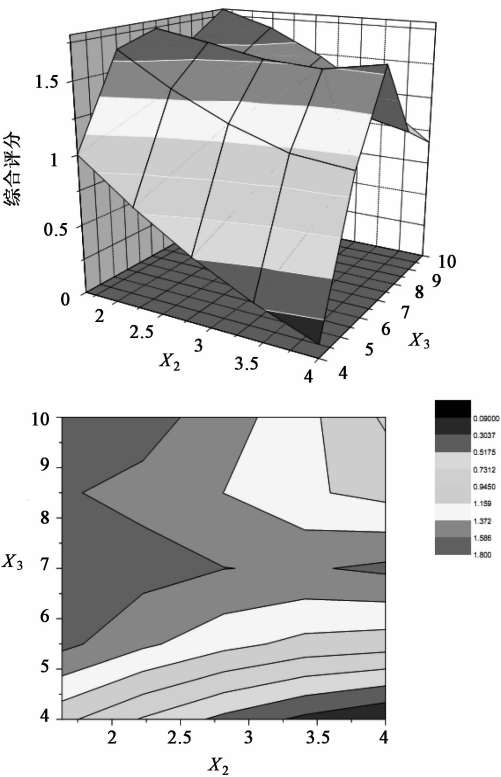


图3 综合评价对 X_2 和 X_3 的三维效应面及二维等高线

物,冰片,薄荷脑),缓慢滴加处方量水,经激光粒度检测仪检测,当油相全部用混合油相时,所制备的乳液粒径达不到纳米级别,因此考虑用 IPM 与混合油

相的混合物。为增加纳米乳的载药量,将 IPM 与混合油相的比例确定为 1:2。按比例称取处方量的吐温 80、无水乙醇、混合油相于烧杯中混匀,加入处方量苦参提取物,搅拌均匀后缓慢滴加处方量水,即得。

2.4 纳米乳性状考察

2.4.1 外观性状 取空白纳米乳及克疣纳米乳,外观澄清,在透射电子显微镜下呈类圆球形、大小均匀。

2.4.2 粒径分布及 Zeta 电位的测定 取适量纳米乳,用激光纳米粒度分析仪进行测定。结果空白纳米乳平均粒径 13.88 nm,Zeta 电位 -0.659 mV;克疣纳米乳平均粒径 27.46 nm,Zeta 电位 -0.522 4 mV,见图 4~5。

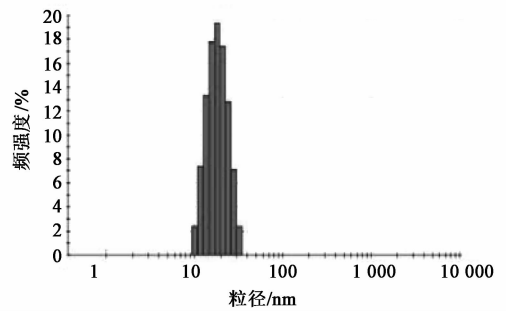


图4 空白纳米乳的粒径分布

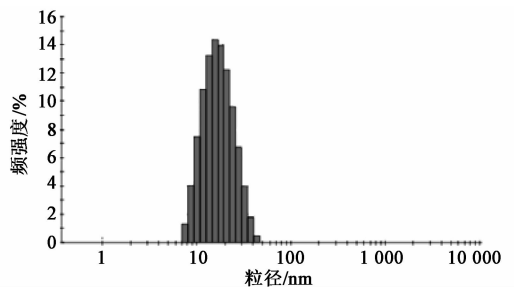


图5 克疣纳米乳的粒径分布

3 讨论

目前国内多采用均匀设计和正交设计优选处方工艺,二者均为基于线性模型的设计,受所选线性模型的限制,只能指出某一因素的取值方向,无法求得极值,测得的效应值与用数学模型预测值偏差较大。效应面法可较好地完成上述优化工作,且最佳条件下效应的预测值和实测值偏差较小^[6],被广泛应用于中药提取^[7-8]、注射剂处方优化^[9]、脂质纳米粒和微乳^[10]的制备等方面,并取得理想的试验结果。因此,本试验采用星点设计-效应面法。

Zeta 电位是评价微粒分散体系物理稳定性的重要指标之一,在一定程度上,Zeta 电位反映了同电荷微粒间排斥力与微粒间吸引力(范德华力)达到平

冻融-酶解-膜分离复合技术纯化板蓝根多糖的工艺优选

陈智^{1,2}, 陈凯¹, 田景振^{1*}

(1. 山东中医药大学, 济南 250355; 2. 济南市第二人民医院, 济南 250001)

[摘要] 目的: 优选冻融-酶解-膜分离复合技术纯化板蓝根多糖的工艺。方法: 以板蓝根多糖和剩余蛋白含量为指标, 在单因素试验基础上, 采用正交试验考察酶解温度、酶解时间、酶用量对板蓝根多糖纯化工艺的影响。结果: 最佳纯化工艺为板蓝根残渣水提取液反复冻融 3 次, 过滤, 按 $3.5 \text{ U} \cdot \text{g}^{-1}$ 加入蛋白酶 2, 酶解温度 $35 \text{ }^\circ\text{C}$, 酶解时间 3 h, 酶解后用截留相对分子质量 30 kD 中空纤维组件超滤。结论: 优选的纯化工艺稳定可行, 冻融-酶解-膜分离复合技术可用于板蓝根多糖的纯化。

[关键词] 板蓝根; 多糖; 纯化工艺

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)14-0042-03

[doi] 10.11653/syjf2013140042

Optimization of Purification Technology for Polysaccharides from *Isatis indigotica* by Freezing and Thawing-Enzymolysis-Membrane Separation Composite Technology

CHEN Zhi^{1,2}, CHEN Kai¹, TIAN Jing-zhen^{1*}

(1. Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Ji'nan 250355, China;

2. Second People's Hospital, Ji'nan 250001, China)

[收稿日期] 20121121(004)

[基金项目] 山东省重大创新药物综合平台——中药创新药物平台项目(2009ZX09301-013)

[第一作者] 陈智, 博士, 从事中药制剂研究, Tel: 0531-89628597, E-mail: chen_zhi6088@163.com

[通讯作者] * 田景振, 博士, 教授, 从事中药制剂研究, Tel: 0531-89628080, E-mail: tianjingzhen@163.com

衡时的相对能态的高低, 过高或过低均不利于微粒的物理稳定性。一般认为, Zeta 电位在 $\pm (20 \sim 25) \text{ mV}$ 内微粒分散体系较稳定。但克疣纳米乳选用吐温 80 为表面活性剂, 其本身不能电离, 故 Zeta 电位较低。

[参考文献]

[1] 蔡有龄, 谭淑珍, 吴燕. 中药“疣毒清”对尖锐湿疣病毒杀灭作用的实验研究[J]. 中国性病艾滋病防治, 2002, 8(2): 108.

[2] 谢敏, 邢建国, 王新春, 等. 天山雪莲透皮微乳制备处方优化[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(1): 8.

[3] 李西林, 栾晶, 王慧, 等. 高乌甲素微乳体外透皮吸收[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(10): 52.

[4] 张鹏威, 苏文琴, 张莉, 等. 家兔静脉注射辣椒碱纳米乳及溶液的药动学比较研究[J]. 中国实验方剂学杂

志, 2010, 16(18): 106.

[5] 吴伟, 崔光华, 陆彬. 实验设计中多指标的优化: 星点设计和总评“归一值”的应用[J]. 中国药学杂志, 2000, 35(8): 530.

[6] 吴伟, 崔光华. 星点设计-效应面优化法及其在药学中的应用[J]. 国外医学·药学分册, 2000, 27(5): 292.

[7] 谢臻, 陈勇, 曾海生, 等. 星点设计-响应面法优选地桃花中总黄酮的提取工艺[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12): 27.

[8] 张囡, 康廷国, 尹海波. 星点设计-响应面法优化穿龙薯蓣多糖提取工艺[J]. 中药材, 2011, 34(1): 123.

[9] 谷丽艳, 李学涛, 唐凌. 星点设计优化长春瑞滨静脉注射乳剂的处方[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(13): 21.

[10] 李天傲, 章晔, 冯璇. 纳洛酮微乳的制备及其透皮吸收作用[J]. 中国药学杂志, 2009, 44(9): 688.

[责任编辑 仝燕]